

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 1月 22日

REC'D 27 FEB 2004

出願番号
Application Number: 特願 2003-013762

WIPO PCT

[ST. 10/C]: [JP 2003-013762]

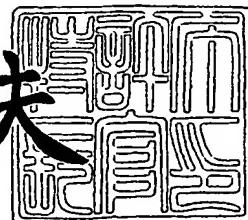
出願人
Applicant(s): 昭和電工株式会社

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 1月 14日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 SDP4414
【提出日】 平成15年 1月22日
【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿
【国際特許分類】 C12N 15/00
【発明者】
【住所又は居所】 千葉県千葉市緑区大野台一丁目1番1号 昭和電工株式会社 研究開発センター内
【氏名】 蒲池 元昭
【発明者】
【住所又は居所】 千葉県千葉市緑区大野台一丁目1番1号 昭和電工株式会社 研究開発センター内
【氏名】 蒲池 晴美
【発明者】
【住所又は居所】 千葉県千葉市緑区大野台一丁目1番1号 昭和電工株式会社 研究開発センター内
【氏名】 青木 裕史
【特許出願人】
【識別番号】 000002004
【住所又は居所】 東京都港区芝大門一丁目13番9号
【氏名又は名称】 昭和電工株式会社
【代表者】 大橋 光夫
【代理人】
【識別番号】 100081086
【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町二丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所
【弁理士】
【氏名又は名称】 大家 邦久
【電話番号】 03(3669)7714

【代理人】**【識別番号】** 100117732**【住所又は居所】** 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所**【弁理士】****【氏名又は名称】** 小澤 信彦**【電話番号】** 03(3669)7714**【代理人】****【識別番号】** 100121050**【住所又は居所】** 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所**【弁理士】****【氏名又は名称】** 林 篤史**【電話番号】** 03(3669)7714**【手数料の表示】****【予納台帳番号】** 043731**【納付金額】** 21,000円**【提出物件の目録】****【物件名】** 明細書 1**【物件名】** 図面 1**【物件名】** 要約書 1**【包括委任状番号】** 0213106**【プルーフの要否】** 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 アシルコエンザイムAを用いるアシル基転移酵素反応方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アシルコエンザイムA（アシルCoA）のアシル基を転移するアシル基転移酵素反応において、化学的チオエステル交換反応によって、コエンザイムAよりアシルコエンザイムAを反応系内で生成および／または再生させて反応させることを特徴とするアシル基転移酵素反応方法。

【請求項2】 反応系内にアシル基供与体、アシル基受容体、コエンザイムA、及びアシル基転移酵素を同時に含み、アシル基供与体のアシル基をアシル基受容体に転移させる請求項1に記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項3】 アシル基供与体のアシル基でアシルコエンザイムAを生成および／または再生しながら行う請求項1または2に記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項4】 アシル基供与体がチオール化合物のアシルエステルである請求項2に記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項5】 チオール化合物が芳香族チオールである請求項4に記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項6】 芳香族チオールが置換基を有していてもよいチオフェノールである請求項5に記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項7】 アシル基受容体がアミノ酸および／またはその誘導体である請求項1乃至6のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項8】 アシル基転移酵素が、セリン・C-パルミトイльтランスフェラーゼである請求項1乃至7のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

【請求項9】 アシル基転移酵素が、スフィンゴシン・N-アシルトランスフェラーゼである請求項1乃至7のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、アシルコエンザイムA（以下、コエンザイムAをCoAと表記することがある。）による種々の有機化合物のアシル基転移酵素反応方法に関する。さらに詳しく言えば、本発明は、アシル基転移酵素を用いるアシル化合物の製造方法において、極めて高価なアシルCoAを追加添加することなく反応を継続的に行い、その生産性を飛躍的に改善することによってアシル基転移酵素の工業製法への利用を可能ならしめた新規なアシル基転移酵素反応方法に関する。

さらに、本発明は化学的チオエステル交換反応をアシルCoA再生系としたCoA酵素カップリング法に関する。

また、本発明はCoA酵素を用いて、スフィンゴ脂質のごとき重要な生理活性物質を製造する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

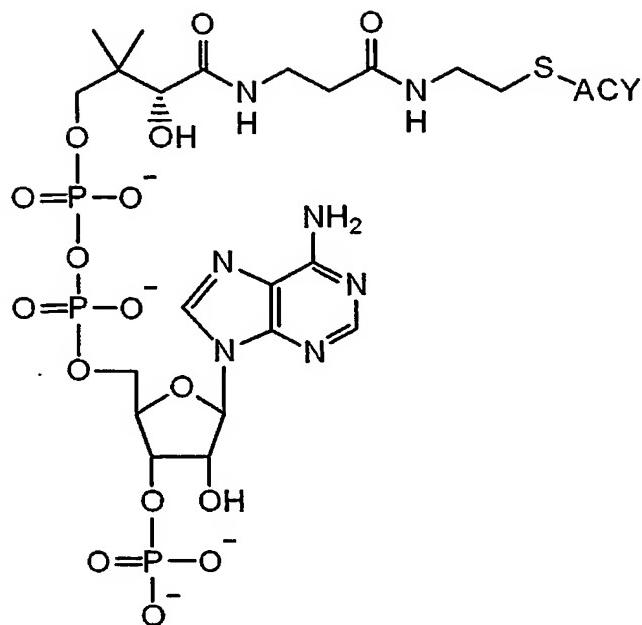
CoAは全ての生物種でアシルキャリア／アシルアクティベーターとして機能する物質である。例えば、アセチルCoAはクエン酸回路を経由する脂肪酸・グルコース等主要な生体代謝のキー物質である他、ある種のアシルCoA誘導体はコレステロールや脂肪酸合成においても重要な役割を果たしている。CoAはこれらの代謝に関わる酵素触媒反応（CoA酵素）の補助因子として必須であり、代替不可能な物質である。

【0003】

このような背景から、各種のCoA酵素を用いて物質を製造しようとする試みは多く成されており、例えば、抗生素質や医薬、ポリケチド合成経路を利用する各種化学物質の製造、アミノ酸類、ポリヒドロキシ酸などの製造例がある。これらの方で大きな技術課題の一つは、反応において等モル消費される極めて高価な下記式等で示されるアシルCoAをいかにして再生し、現実的な製造法とし得るかという点にある。

【0004】

【化1】



(式中、ACYはアシル基である。)

【0005】

対象物の価格が余程高価で無い限り、アシルC_oAを10,000回以上回転させなければコスト的に工業製法とは成り得ないと言われている。上記の方法では、いずれも、発酵的に生産される生体内のアシルC_oAを用いるか、生産系とは別個に製造したアシルC_oAを用いている。発酵的に生産される生体内のアシルC_oAを用いる場合は、生体内で生産されるアセチルC_oAやマロニルC_oAといった特定のアシルC_oAしか利用し得ない。この課題を解決すべく、アセチルC_oAと各種脂肪酸間で酵素的にエステル交換を行い、非生体的なアシルC_oAを生産する技術も報告されている。生産系とは別個に製造したアシルC_oAを用いる方法は、汎用性が有り一般的に取られる方法であるが、このようにして製造したアシルC_oAは極めて高価であり、アシル基転移反応に使用するには等モル必要であることにかわりはない。

【0006】

アシルC_oAの製造方法としては、アシルクロライドによる化学合成法、酸無水物を用いる化学合成法、クロロ炭酸エチルとの混合酸無水物を用いる化学合成法、チオエステル交換による化学合成法 (Z. Naturforsch 29C, 469-474 (1974))

(非特許文献1)、Z. Naturforsch 30c, 352-358 (1975) (非特許文献2))、その他多くの化学合成法が一般に用いられている。しかしながらこれらの化学的方法は一般にチオール基への選択性が低いものが多く、非選択性的なアシル化反応により収量が低下する問題があった。これらの製法は現在もアシルC o Aの実験室的調製法として用いられているが、酵素反応系におけるアシルC o A再生系として利用する試みは全く知られていなかった。

化学合成法の弱点を克服すべく、酵素的アシルC o Aの製造法も精力的に研究されている。すなわち、アセチルC o A合成酵素を用いる方法や脂肪酸C o A合成酵素を用いる方法などが報告されている。

【0007】

また、酵素を用いる製法に関しては、これらをアシルC o A再生系としてC o A酵素反応と協同させたカップリング法に関する研究も報告されている。すなわち、ホスホトランスアセチラーゼを用いるカップリング法、カルニチンアセチルトランスフェラーゼを用いるカップリング法、アセチルC o A合成酵素を用いるカップリング法、 α -ケトグルタル酸脱水素酵素を用いるカップリング法などである。これらの方はチオール基への選択性が高く、特にアセチルC o A合成酵素は基質特異性が広く各種のアシルC o Aを生成し得ることから有用である。しかしながら、これらは酵素によりアシルC o Aを再生しており、この様な酵素的再生系は反応速度が遅いこと、酵素が不安定であること、反応にATPや比較的高価な副成分を必要とすること、高濃度のC o Aでは反応できないことなど、それぞれに課題が残されており、製造法として充分とは言えないものであった。

以上のように、今までC o A酵素を工業的製法として利用することを可能とするに充分な、アシルC o A再生系は知られていなかった。

【0008】

【非特許文献1】

Z. Naturforsch 29C, 1974年, 469-474頁

【非特許文献2】

Z. Naturforsch 30C, 1975年, 352-358頁

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、アシルC_oA再生系でC_oA酵素を用いる工業的なアシル基転移酵素反応方法、特に生体物質等の生理活性物質の生産に有用なアシル基転移酵素反応方法を提供することを課題とする。

【0010】**【課題を解決する手段】**

本発明者らは、アシルC_oAの再生系について、効率、速度、コスト、選択性および酵素反応とのカップリング可否に関し鋭意研究した結果、これまで調製にのみ用いられていた化学合成法の一つであるチオエステル交換反応を酵素反応系とカップリングし得ることを突き止め、本発明を完成するに至った。

このチオエステル交換反応は中性～弱塩基性域の系で進行すること、アシル基の基質特異性が極めて広いことから、チオエステル交換反応が起こり得る領域で反応性を示すC_oA酵素の何れともカップリングが可能である。

さらに、発明者らは、このカップリング法をスフィンゴ脂質生合成経路におけるキー酵素であるセリン・C-パルミトイльтランスフェラーゼに適用し、チオフェニル脂肪酸とセリンから、C_oAを介した脂肪酸鎖の脱カルボキシ的転移反応により、重要な生理活性物質であるスフィンゴ塩基を生成する方法を確立することに成功した。

【0011】

すなわち、本発明は、以下のアシル基転移酵素反応方法に関する。

1. アシルコエンザイムAのアシル基を転移するアシル基転移酵素反応において、化学的チオエステル交換反応によって、コエンザイムAよりアシルコエンザイムAを反応系内で生成および／または再生させて反応することを特徴とする。
2. 反応系内にアシル基供与体、アシル基受容体、コエンザイムA、及びアシル基転移酵素を同時に含み、アシル基供与体のアシル基をアシル基受容体に転移させる前項1に記載のアシル基転移酵素反応方法。
3. アシル基供与体のアシル基でアシルコエンザイムAを生成および／または再生しながら行う前項1または2に記載のアシル基転移酵素反応方法。
4. アシル基供与体がチオール化合物のアシルエステルである前項2に記載のア

シル基転移酵素反応方法。

5. チオール化合物が芳香族チオールである前項4に記載のアシル基転移酵素反応方法。

6. 芳香族チオールが置換基を有していてもよいチオフェノールである前項5に記載のアシル基転移酵素反応方法。

7. アシル基受容体がアミノ酸および／またはその誘導体である前項1乃至6のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

8. アシル基転移酵素が、セリン・C-パルミトイльтランスフェラーゼである前項1乃至7のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

9. アシル基転移酵素が、スフィンゴシン・N-アシルトランスフェラーゼである前項1乃至7のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

10. アミノ酸および／またはアミノ酸誘導体にアシル基を転移導入する反応である前項1乃至9のいずれかに記載のアシル基転移酵素反応方法。

【0012】

【発明の実施の形態】

本発明によると、図1に示すように、アシル基供与体、アシル基受容体、CoA、及びアシル基転移酵素(CoA酵素)を一つの系に存在させ、反応進行により消費されるアシルCoAが、酵素反応と同系内においてアシル基供与体とコエンザイムAとの化学的チオエステル交換反応により生成・再生されるカップリング反応によってアシル基転移反応を行うことができる。

【0013】

本発明において使用するCoA酵素には、アシルCoAを補足因子とするものである以外に特に制限は無い。これらの酵素の例としては、アセチルグルタミン酸シンターゼ(EC 2.3.1.1)、アセトアセチルCoAチオラーゼ(EC 2.3.1.9)、セリン・C-パルミトイльтランスフェラーゼ(EC 2.3.1.50)等、「EC 2.3.1.x」シリーズに属するトランスフェラーゼ類が挙げられる。これらの酵素類は既に多くの生物に存在することが明らかにされており、各種の生物から分離精製がなされている(Enzyme Nomenclature, 178-199, Academic Press, INC.(1992))。中でも、中性～弱塩基性域に至

適pHを示す酵素がさらに好適である。これらCoA酵素は精製酵素であってもよいが、CoA酵素活性を有する触媒菌体あるいはその処理物を用いることもできる。但し、この場合は、アシルCoAを補欠因子とする目的以外の酵素の影響を、欠損変異株の使用、活性阻害、失活処理等により回避することが望ましい。

【0014】

本発明において使用するアシル基供与体は、CoAと非触媒的にエステル交換反応が起こり得るものであれば制限は無いが、芳香族チオールのアシルエステルが好ましい。芳香族チオールの例としては、チオフェノール、メチルチオフェノール、クロロチオフェノール、2-メルカプトチアゾール、2-メルカプトイミダゾール、2-メルカプトトリアゾール、2-メルカプトベンゾチアゾール、2-メルカプトベンゾイミダゾール、2-メルカプトピリジン等を挙げることができる。特に好適な例として、チオフェノールのアシルエステル類が挙げられる。

【0015】

アシルエステルのチオールに対応するアシル基としては、基本的に制限無く使用することができる。

また、本発明において使用するアシル基受容体は、上記CoA酵素が基質とする限り制限は無い。酵素の基質特異性を反応条件によって変化させることや、タンパク質工学的に基質特異性を変化させた変異体などを用いることにより、酵素の通常の好適な基質でない物質をもアシル基受容体とし得る。

好ましいアシル基受容体は、アミノ酸、アミノ酸誘導体であり、天然アミノ酸、非天然アミノ酸が特に好ましい。

さらに、本発明において使用するCoAは、化学合成法、半合成法、生物発酵法などいずれの方法で製造されたものでもよく、CoAとして機能し得るものであれば良い。

【0016】

本発明において、使用する反応系は、アシル基供与体とCoAのエステル交換反応と、用いるCoA酵素によるアシルCoAからアシル基受容体へのアシル基転移反応が同時に進行する系である限り制限は無く、水均一系、有機溶媒均一系、あるいは有機溶媒一水二層系等を用いることができる。

【0017】

本発明の反応は、CoA酵素の安定性が確保され、反応が進行する温度であればよい。通常10°C～45°Cであり、好ましくは、20°C～40°Cである。

本発明の反応は、濃度に関してもCoA酵素の安定性が確保され、反応が進行するならば、特に制限はない。

反応系は開放型でも密閉型でも良く、臭気等が問題になる場合には密閉系において反応を行えば良い。

【0018】

【実施例】

以下、実施例により本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれら実施例によりなんら限定されるものではない。

【0019】

実施例1：アシルチオフェノール（チオフェニルパルミテート）の合成

よく乾燥させて窒素置換したフラスコに無水ジクロロメタン6mLを添加し、氷上で冷やしながらよく攪拌した。そこに2Mトリメチルアルミニウム2mLをゆっくりと添加した。さらにチオフェノールをゆっくりと添加した。室温で1時間30分攪拌を続けた後、無水ジクロロメタン6mLに溶解したパルミチン酸エチルエステルをゆっくりと添加して反応させた。反応はTLCでモニターした。反応終了後、反応液にジクロロメタン20mLを加え、更に気泡発生が無くなるまで3%塩酸水溶液を添加した。この溶液を分液漏斗に移して、3%塩酸水溶液で3回、飽和食塩水で2回洗浄した後、硫酸マグネシウムで乾燥、ろ過して硫酸マグネシウムを除去した後、エバボレーションで濃縮し、濃黄色のオイル状溶液を得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル=2/1）によって分離精製してチオフェニルパルミテートを得た。

【0020】

実施例2：セリン・C-パルミトイльтランスクレアーゼ（SPT）の調製

Sphingomonas属由来の上記酵素を大腸菌にクローン化した形質転換体からSPT粗酵素抽出液を得た。本形質転換体の作成法、SPT精製法はIkushiro, H.らによる「The Journal of Biological Chemistry 276, 18249-18256 (2001)」の

記載に従った。

まず、上記S P Tの全塩基配列から、N末端配列とC末端配列をコードするプライマー（配列番号1及び配列番号2）を作成し、Sphingomonas paucimobilisの染色体DNAを鑄型として、以下の条件でP C RによりS P Tコード領域に相当するDNA断片を作成した。このとき、N末端用プライマーにはベクターへの接続のためN c o Iサイトを、C末端用プライマーにはHind IIIサイトを設けた。

【0021】

[プライマー]

N末端用プライマー 5' -accatgaccgaagccgcccgtca- 3' (配列番号1)

C末端用プライマー 5' -taagcttcagccgatgacgccc- 3' (配列番号2)

【0022】

[反応液組成]

LA Taqポリメラーゼ (Polymerase) 、

同酵素添付の標準緩衝液、

鑄型染色体 <1 μ g、

プライマー 各1 μ M、

d NTP 各200 μ M、

液量 25 μ L～100 μ L。

【0023】

[反応条件]

変成温度 94℃、30秒、

アニール温度 40+0.25℃／サイクル、30秒、

伸張温度 72℃、90秒。

【0024】

作成したP C R断片をアガロースゲル電気泳動した後ゲルより抽出し、カラムにより回収した。この断片を制限酵素N c o I-Hind IIIで処理し、プラスミド

pET21dのNcoI-HindIII断片とライゲーションし、宿主大腸菌BL21（DE3）株を形質転換した。

作成した形質転換体をアンピシリン50ppmを含むLB培地5mLで、35℃、16時間培養した後、菌体を遠心分離して回収し、生理食塩水で洗浄した。洗浄菌体をSPT用緩衝液（20mMリン酸緩衝液（pH6.5, 0.1mM EDTA, 5mM DTT, 0.1mM AEBSS（プロテアーゼ阻害剤）, 0.02mM PLPを含む））2mLに再懸濁し、氷冷しながら超音波破碎機で約10分間破碎した後、未破碎物を遠心分離（12,000rpm×10分間）して除去し粗酵素抽出液を得た。

【0025】

実施例3：エステル交換反応とCoA酵素反応のカップリング（水均一系）

CoAナトリウム塩2mgとL-セリン1mgを100mM HEPES-NaOH緩衝液（10μM PLPを含む、pH8.0）5mLに溶解し、マグネットスターでよく攪拌した。そこにチオフェニルパルミテート3.5mgをアセトニトリル0.1mLで溶解させた溶液を混合した。攪拌速度を軽く混ざる程度に落としてSPT粗酵素液0.5mLを添加し、24時間、37℃で反応させた。この溶液を2Nアンモニア溶液1mLでアルカリ性とした後、クロロホルム/メタノール（2:1(v/v)）5mLで溶液中の生成物を抽出、回収した。抽出液をフィルターろ過した後適当に濃縮し、下記の分析法に従って3-ケトジヒドロスフィンゴシンを定量したところ、生成量は約1.0mgであった。

[スフィンゴシン類の分析法]

Tanaka, M.らによるJournal of Chromotography 284, 433-440 (1984)に記載の方法に従いTLC-FID (Iatroskan) を用いてスフィンゴシン類の定量分析を行った。すなわち、標準試料として1~10mgのジヒドロスフィンゴシン（スフィンガニン）または3-ケトジヒドロスフィンゴシンをメタノール1mLに溶解した溶液1μLを、クロマトロッドS II (シリカゲル) に供し、一次展開液（クロロホルム-メタノール-15Nアンモニア溶液=60:10:1で展開した。展開後のロッドをIATROSCAN TH-10 TLC/FID Analyser (IATRON社製) に供することでスフィンゴシン類を検出定量した。

【0026】

比較例：カップリング系を用いないC o A酵素反応

パルミトイルC o A 10 mgとL-セリン1 mgを100 mM HEPES-NaOH緩衝液（10 μM PLPを含む、pH 8.0）5 mLに溶解し、マグネチックスターラーでよく攪拌した。攪拌速度を軽く混ざる程度に落としてSPT粗酵素液0.5 mLを添加し、24時間、37℃で反応させた。この溶液を2Nアンモニア溶液1 mLでアルカリ性とした後、クロロホルム／メタノール（2:1(v/v)）5 mLで溶液中の生成物を抽出、回収した。抽出液をフィルターろ過した後適当に濃縮し、実施例3と同様に分析した結果、3-ケトジヒドロスフィンゴシンの生成量は約0.02 mgであった。

【0027】

実施例4：エステル交換反応とC o A酵素反応のカップリング（油水二層系）

C o Aナトリウム塩2 mgとL-セリン1 mgを100 mM HEPES-NaOH緩衝液（10 μM PLPを含む、pH 8.0）5 mLに溶解し、マグネチックスターラーでよく攪拌した。そこにチオフェニルパルミテート3.5 mgをヘキサン5 mLで溶解させた溶液を混合した。攪拌速度を軽く混ざる程度に落としてSPT粗酵素液0.5 mLを添加し、24時間、37℃で反応させた。この溶液を2Nアンモニア溶液1 mLで酸性化した後、クロロホルム／メタノール（2:1(v/v)）5 mLで溶液中の生成物を抽出、回収した。抽出液をフィルターろ過した後適当に濃縮し、実施例3と同様にして3-ケトジヒドロスフィンゴシンを定量分析したところ、生成量は約2.2 mgであった。

【0028】

【発明の効果】

本発明によるアシル基転移酵素を用いる化合物製造方法においては、極めて高価なアシルコエンザイムAを追加添加することなく反応を継続的に行い、その生産性を飛躍的に改善することができる。従って、アシル基転移酵素の工業製法への利用を可能ならしめた新規なカップリング法により種々化合物を製造することができる。本発明の方法により、スフィンゴ脂質、抗生物質類、医薬のごとき重要な物質を製造することができる。

【0029】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> SHOWA DENKO K.K.

<120> Acyltransferase reaction method using acylcoenzyme A

<130> SDP-4414

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 23

<212> DNA

<213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 1

accatgaccg aagccgcccgc tca

23

<210> 2

<211> 23

<212> DNA

<213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 2

taagcttca gccgatgacg ccg

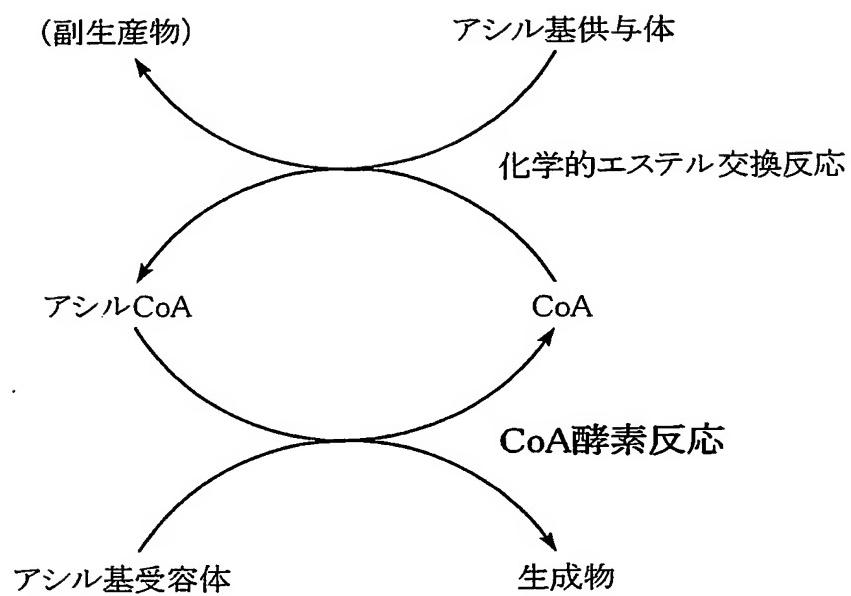
23

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明によるチオエステル交換によるアシルCoA再生系とのカップリング反応を示すスキームである。

【書類名】 図面

【図1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 CoA酵素を用いたアシルCoAによる工業的なアシル基転移酵素反応方法、特に生体物質等の生理活性物質の生産に有用なアシル基転移酵素反応方法を提供する。

【解決手段】 アシルコエンザイムAのアシル基を転移する転移酵素反応において、反応系内にアシル基供与体、アシル基受容体、コエンザイムA、及びコエンザイムAを介するアシル転移酵素を同時に含み、アシル基供与体のアシル基をアシル基受容体に転移させる化学的チオエステル交換反応によって、コエンザイムAよりアシルコエンザイムAを反応系内で生成および／または再生させて反応させる、特にアミノ酸および／またはアミノ酸誘導体にアシル基を転移導入するアシル基転移酵素反応方法。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-013762
受付番号	50300098091
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成 15 年 1 月 27 日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000002004

【住所又は居所】 東京都港区芝大門1丁目13番9号

【氏名又は名称】 昭和電工株式会社

【代理人】

【識別番号】 100081086

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口
第2ビル7階 大家特許事務所

【氏名又は名称】 大家 邦久

【代理人】

【識別番号】 100117732

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口
第二ビル7階 大家特許事務所

【氏名又は名称】 小澤 信彦

【代理人】

【識別番号】 100121050

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口
第2ビル7階 大家特許事務所

【氏名又は名称】 林 篤史

次頁無

特願 2003-013762

出願人履歴情報

識別番号 [000002004]

1. 変更年月日 1990年 8月27日

[変更理由] 新規登録

住所 東京都港区芝大門1丁目13番9号

氏名 昭和電工株式会社